

令和 4 年 5 月 30 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2020～2021

課題番号：20K21645

研究課題名（和文）遺伝子導入による一過性脂肪組織増大シグナル亢進を用いた、ドナー不要の乳房再建

研究課題名（英文）Breast reconstruction without donor tissue using gene transduction

研究代表者

岡崎 睦（OKAZAKI, MUTSUMI）

東京大学・医学部附属病院・教授

研究者番号：50311618

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、乳房欠損に対する新しい治療方法として、アデノ随伴ウイルスベクターによる遺伝子導入を用いた方法について検討を行った。動物を用いた生体内への遺伝子導入によって、局所的に脂肪組織を増やして形態を修正可能であることができた。さらに、臨床的に望まれる強力で、安全な方法の開発のために、化学物質による足場を用いる方法、新しい遺伝子導入ベクターの開発を進めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生まれ持った理由や、がんの切除術などによって乳房が欠損もしくは変形して、その改善が望まれることがあるが、現状では、人工物を利用するか、新たにキズを作って自己組織を用いて再建する治療方法しかない。本研究成果によって、体の一部のみを増大させる新しい形の治療方法の開発への道筋が示された。また、開発が進められた新しい生体吸収性化学物質や新しい遺伝子導入方法は、本研究の主目的のみならず、脂肪や筋肉などの病気に対する治療方法開発の基礎技術として応用することも期待できる。

研究成果の概要（英文）：Utility of AAV-based in vivo gene transduction for the reconstruction of localized soft tissue expansion was confirmed. For the further development towards strong, safety, and controllable therapeutic intervention, new chemical materials are experimentally tested. A new AAV capsid for enhanced in vivo gene transduction to adipose tissue are also developed. The findings pave a way for development of clinically useful soft tissue regeneration/ reconstruction therapies.

研究分野：形成外科

キーワード：乳房再建術 脂肪 遺伝子導入 アデノ随伴ウイルスベクター

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

日本人女性の12人に1人が乳癌に罹患するとされるなか、現状では、人工物を利用するか、整容重視の治療であるにもかかわらず、新たにキズを作って自己組織を用いて再建する治療方法しかない。もっと低侵襲に自己組織を用いた再建術ができれば、理想的であると考えた。

2. 研究の目的

本研究は、量的に組織の欠損した部位に、アデノ随伴ウイルスベクター (AAV) を用いた遺伝子導入によって特定の遺伝子を一過性に発現させることによって、局所的な脂肪組織増生を呈する環境を誘導することによって軟部組織の増大を図る、新しい組織新生誘導法の開発を目的とした。

3. 研究の方法

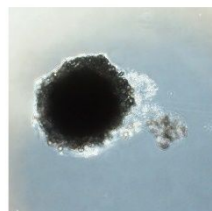
3次元培養系を用いた *in vitro* 実験系における導入遺伝子の検討によるスクリーニングによって選択した因子を用いて、*in vivo* における検討、実証を行い、局所的な軟部組織の増大を与える、新しい組織新生誘導法の開発を進めた。

4. 研究の成果

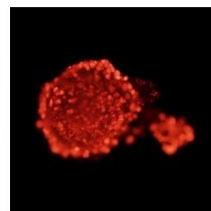
当初計画に従って PIK3CA 関連過成長症候群 (PROS) の原因遺伝子となる PI3K の代表的な恒常的活性型変異 (以下 actPIK3CA) である p110*PIK3CA キメラタンパクのコーディングシーケンスを入手しクローニングを進めたが良好な進捗を得ることが困難であったため、組織発生的な観点から局所的な脂肪増生シグナルを与えうる作用を有する遺伝子群、転写因子群について検討を進める方針とした。

脂肪再生の研究には、従来細胞内に脂肪成分の貯蓄を促す誘導培地が用いられることが一般的であった。対して本研究では、生体内で脂肪細胞へ分化しうると考えらえる細胞のみが脂肪細胞としての表現型を呈する 3次元培養系を開発、使用して因子のスクリーニングを進めた (下図)。

位相差



Oil Red O



図説:胎生 14.5 日のマウス背部の皮膚皮下組織から酵素分散法を用いて単離した細胞から、特別な誘導培地を用いることなく形成された皮膚皮下組織 3 次元培養構造。本来脂肪細胞へ分化する能力をもった細胞が脂肪細胞としての表現型を呈している。

本研究期間内に、FGF や BMP、SHH など、軟部組織発生に重要なパラクライン作用を有することが知られている遺伝子群を含めて計 70 余の遺伝子導入ベクターを作成し、検討を進めた。

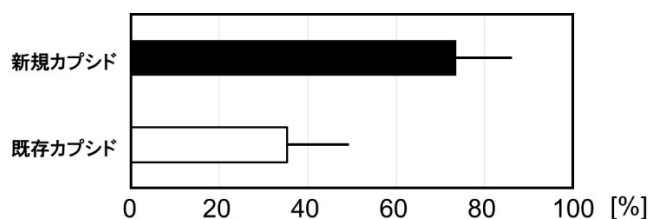
結果として、動物実験における AAV を用いた局所的な遺伝子導入によって、外観上認めうる軟部組織増生を認める遺伝子セットを発見した。



図説: AAV による局所的な遺伝子導入を行った際の実験側と比較対象側表面形状を観察可能な足底部における表現型の変化を示す。遺伝子導入を行った実験側では、平坦な足底面の隆起を認める。

一方で、乳房再建で臨まれるような強い隆起性の形態をもった局面の形成のためには、より効率よく組織増生を誘導する必要があるため、更なる因子の調整を進めたが、腫瘍性のモノクローナルな細胞増生のコントロールが困難であったことから、空間的な「場」の確保を目的に、化学物質による足場の検討を進めた。

更に、既存の AAV の中では脂肪組織内の細胞に対して最も高い遺伝子導入効率をもつ既存血清型の AAV カプシドに対して改変を加え、生体組織内でより高い遺伝子導入効率を呈する新規 AAV カプシドを作成した(下図)。



図説: 脂肪組織内の細胞に対する新規カプシドと既存カプシドの遺伝子導入効率

n=5 の動物において検討を行った。新規カプシドは既存カプシドに対して 2 倍強有意に高い遺伝子導入効率を示した ($p<0.01$)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 栗田昌和、加藤基、岡崎睦	4. 巻 274
2. 論文標題 細胞リプログラミングによる潰瘍面からの新規上皮化 高齢化社会における皮膚潰瘍治療のブレークスルーを目指して	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 医学のあゆみ	6. 最初と最後の頁 1071-74
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 栗田昌和、加藤基、岡崎睦
2. 発表標題 組織胎児化による皮膚再生法の開発
3. 学会等名 第19回再生医療学会総会
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 李可心、栗田昌和、岡崎睦
2. 発表標題 重層扁平上皮形成能を有する細胞への新規リプログラミング因子の同定
3. 学会等名 第29回日本形成外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 栗田昌和、加藤基、沼畑岳央、岡崎
2. 発表標題 創傷治癒の促進を目的とした遺伝子治療法の開発
3. 学会等名 第50回日本創傷治癒学会
4. 発表年 2020年～2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	栗田 昌和 (KURITA MASAKAZU) (20424111)	東京大学・医学部附属病院・助教 (12601)	
研究分担者	金山 幸司 (KANAYAMA KOJI) (40612601)	東京大学・医学部附属病院・助教 (12601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------